

WPŁYW pH I JONÓW CYNKU NA POWIERZCHNIĘ WŁAŚCIWĄ
KORZENI ŻYTA (*Secale cereale* L.) WYZNACZANĄ METODĄ
ADSORPCJI-DESORPCJI AZOTU

Alicja Szatanik-Kloc, Grzegorz Bowanko

Instytut Agrofizyki PAN im. Bohdana Dobrzańskiego, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin
e-mail: akloc@demeter.ipan.lublin.pl

Streszczenie. Do badań wykorzystano korzenie żyta (*Secale cereale* L.), formy ozimej odmiany Rostockie. Doświadczenie założono metodą kultur wodnych. Początkowy wzrost roślin odbywał się na pożywce o tym samym składzie chemicznym i pH = 7. W fazie strzelania w źdźbło odczyn pożywki obniżono do pH = 4,5 oraz zmieniono skład pożywki dodając cynk (ZnCl₂) w ilościach 20, 200, 400 mg·dm⁻³. Czas inkubowania w warunkach stresu wynosił 14 dni. Izotermi adsorpcji-desorpcji azotu wyznaczano w temperaturze wrzenia ciekłego azotu przy wykorzystaniu firmowego aparatu Sorptomatic 1990 firmy CEFISONS i programu Milestone 2000. Odnotowano, że pod wpływem stężeń 200 i 400 mg·dm⁻³ jonów Zn⁺² w pożywce swobodna powierzchnia właściwa badanych korzeni wzrastała, a średnia energia adsorpcji azotu malała. Nie odnotowano istotnych zmian w stosunku do powierzchni i średniej energii adsorpcji korzeni badanego żyta, rosnących w warunkach kontrolnych przy pH = 7 i przy pH = 4,5 bez dodatkowej aplikacji jonów Zn⁺² oraz przy pH + 4,5 + 20 mg·dm⁻³ cynku w pożywce.

Słowa kluczowe: cynk, energia adsorpcji azotu, korzenie żyta, pH, swobodna powierzchnia właściwa

WSTĘP

Cynk w roślinach aktywuje wiele enzymów. Od obecności jonów cynku zależy min. aktywność anhidrazy węglanowej, dehydrogenazy alkoholowej i dehydrogenazy zredukowanego NAD (dwunukleotyd nikotynamido-adeninowy) i NADP (fosforan dwunukleotydu nikotynamido-adeninowy)¹. Cynk reguluje proporcje składni-

¹NAD i NADP(w chloroplastach) pełnią rolę donorów elektronów w jednym ze sposobów syntezy glutaminianu – będącego głównym donorem grup aminowych dla większości syntetyzowanych organicznych związków azotowych (Szwejkowska 2000).

ków na poziomie komórki co wpływa na przepuszczalność błon komórkowych. Jony cynku determinują również procesy powstawania rybosomów. Brak tego pierwiastka upośledza syntezę tryptofanu, co bezpośrednio wpływa na produkcję auksyn, pośrednio zaś prowadzi do ograniczenia szybkości wzrostu rośliny. Jednak zarówno jego niedobór jak i nadmiar wpływa na rośliny negatywnie. Na przyswajanie jonów cynku wpływa między innymi odczyn i stosunek jonów Ca^+/Zn^+ w roztworze glebowym. Kwaśny odczyn podłoża sprzyja wzrostowi zawartości tego mikroelementu szczególnie w korzeniach roślin, jednocześnie ogranicza dostępność wapnia, w wyniku czego może dojść do maceracji tkanki korzeniowej. Zmiana procesów metabolicznych (w obecności czynników stresowych) może wpływać na zmianę właściwości sorpcyjnych i jonowymiennych korzeni roślin.

Jedną z wielkości wykorzystywaną do fizykochemicznych charakterystyk poboru wody i jonów przez korzeń jest powierzchnia właściwa. Oprócz pary wodnej drugim najczęściej stosowanym adsorbentem w badaniach właściwości powierzchniowych sorbentów naturalnych jest azot. Jest to adsorbent o innych niż para wodna właściwościach fizykochemicznych. Charakteryzuje więc inne centra adsorpcyjne (niepolarne). Powierzchnie oznaczane azotem często określa się jako powierzchnię zewnętrzną adsorbenta (Dechnik i Stawiński 1974). W dużej mierze jest ona determinowana geometrią badanej powierzchni.

Celem przeprowadzonych badań było wykazanie: czy i w jaki sposób jony cynku wpływają na wielkość powierzchni właściwej korzeni żyta oraz na charakter energetyczny badanej powierzchni w warunkach obniżonego pH i stresu związanego z wysoką zawartością jonów cynku.

MATERIAŁ I METODY

Do badań wykorzystano korzenie żyta (*Secale cereale* L.), formy ozimej odmiany Rostockie. Doświadczenie założono metodą kultur wodnych. Początkowy wzrost roślin odbywał się na pożywce o tym samym składzie chemicznym i pH = 7, w cyklu dobowym 16 godz. (dzień) i 8 godz.(noc), w temperaturze 23°C (dzień) i 16°C (noc). W fazie strzelania w źdźbło obniżono odczyn pożywki do pH = 4,5 i do części pożywki dodano dodatkowo cynk (ZnCl_2) w stężeniach 20, 200, 400 $\text{mg}\cdot\text{dm}^{-3}$. Pozostała część roślin rosła na pożywce takiej samej jak w początkowej fazie wzrostu, przy pH = 7 (obiekt kontrolny) i przy pH = 4,5 bez dodatkowej aplikacji jonów Zn^{+2} . Eksperyment przeprowadzono w trzech powtórzeniach dla każdej serii. Odczyn pożywki kontrolowano, co 24 godz. Czas inkubowania w warunkach stresu wynosił 14 dni. Po tym okresie rośliny zebrano. Oddzielono korzenie od części nadziemnych. Zebrane korzenie roślin przepłukano 0,01 $\text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ roztworem kwasu solnego i trzykrotnie wodą destylowaną w celu

odmycia zaadsorbowanych wymiennie jonów powierzchniowych, po czym wstępnie suszone w temperaturze 30°C przez 48 godzin. Izotermy adsorpcji-desorpcji azotu wyznaczano w temperaturze wrzenia ciekłego azotu przy wykorzystaniu firmowego aparatu Sorptomatic 1990 firmy CEFISONS i programu Milestone 2000. Izotermy adsorpcji-desorpcji azotu i oparte na danych eksperymentalnych tych izoterm wielkości swobodnej powierzchni właściwej oraz jej charakterystyki energetyczne wyznaczono dla każdej serii eksperymentu w trzech powtórzeniach (Szatanik-Kloc 2006).

TEORIA

Izotermy adsorpcji-desorpcji

Do opisu danych doświadczalnych zastosowano model adsorpcji Brunauer-Emmet-Teller (BET), który w formie liniowej wyraża się równaniem:

$$y/a = 1/(a_m C) + x(C-1)/(a_m C) \quad (1)$$

gdzie $y = x/(1-x)$, $x = p/p_0$, p_0 (Pa) – względna prężność adsorbentu, $g \cdot g^{-1}$ – ilość zaadsorbowanego adsorbentu (azotu) przy $p/p_0 = x$, $a_m (g \cdot g^{-1})$ – statystyczna pojemność monowarstwy, C – stała, gdzie $C = \exp\{(E_a - E_c)/RT\}$, E_a ($J \cdot mol^{-1}$) – energia adsorpcji, E_c ($J \cdot mol^{-1}$) – energia kondensacji adsorbentu, R ($mol^{-1} \cdot K^{-1}$) – stała gazowa w T (K) temperaturze.

Powierzchnia właściwa

Na podstawie danych doświadczalnych adsorpcji z przedziału względnych ciśnień p/p_0 od 0,05 do 0,35 wyznaczono statystyczną pojemność monowarstwy (a_m), na podstawie której, obliczono powierzchnię właściwą (swobodną):

$$S = L\omega a_m / M \quad (2)$$

Gdzie: ω (m^2) – pole powierzchni molekuly azotu ($16,02 \cdot 10^{-20} m^2$), L (mol^{-1}) liczba Avogadro, M ($kg \cdot mol^{-1}$) jest masa molowa azotu, a_m ($g \cdot g^{-1}$) – statystyczna pojemność monowarstwy.

Energia adsorpcji

Niejednorodność energetyczną badanych adsorbentów wyznaczono z danych eksperymentalnych adsorpcji na podstawie teorii adsorpcji na powierzchniach heterogenicznych (Józefaciuk i Szatanik-Kloc 2003, Sokołowska i in. 1999). Niejednorodność energetyczną charakteryzuje funkcja rozkładu energii adsorpcji,

pokazująca względny udział (frakcji) poszczególnych i -tych centrów adsorpcyjnych na całkowitej powierzchni adsorbenta. Niejednorodność energetyczna charakteryzowana poprzez funkcję rozkładu energii, dotyczy układu adsorbent-adsorbat i dostarcza nam informacji o miejscach adsorpcyjnych (w przypadku azotu są to niepolarne centra adsorpcyjne na powierzchni adsorbenta).

Funkcje rozkładu energii adsorpcji obliczono za pomocą następującej formuły:

$$f(E_i) = [(1-x_{i+1})^{-1}\Theta_i(E_{i+1}) + (1-x_i)^{-1}\Theta_i(E_i)]/(E_{i+1}-E_i) \quad (3)$$

gdzie x_i – dane p/p_0 , x_{i+1} – kolejna wartość p/p_0 , izoterma lokalna $\Theta_i = a/a_m$, a_m ($g \cdot g^{-1}$) – statystyczna pojemność monowarstwy, E_i – energia adsorpcji i -centrów adsorpcyjnych oraz E_{i+1} – kolejnych frakcji. Energia adsorpcji związana jest z ciśnieniem adsorbentu w następujący sposób:

$$\exp(E_i/RT) = (p/p_{0i})^{-1} \quad (4)$$

Funkcja $f(E_i)$ musi spełniać warunek normalizacji:

$$\sum_{i=1}^n f(E_i) = 1 \quad (5)$$

W oparciu o wartości funkcji rozkładu energii obliczono średnią energię adsorpcji E_{av} :

$$E_{av} = \sum E_i f(E_i) \quad (6)$$

Średnia energia adsorpcji jest średnią statystyczną dla danej powierzchni adsorbenta.

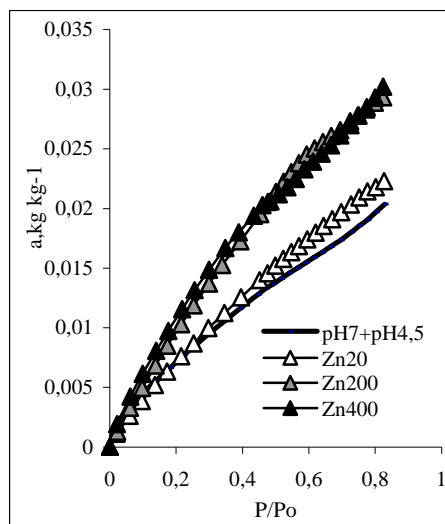
WYNIKI I DYSKUSJA

Izotermy adsorpcji azotu przedstawiono na rysunku 1. Nie odnotowano zmian w przebiegu izoterm adsorpcji azotu dla korzeni inkubowanych w $20 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ Zn}^{+2}$ i przy pH 4,5 bez dodatkowej aplikacji jonów cynku. Natomiast zaobserwowano wzrost izoterm adsorpcji azotu dla korzeni, które rosły przy stężeniach 200 i $400 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3} \text{ Zn}^{+2}$ w pożywce.

Zboża, rośliny motylkowe, chmiel, len należą do roślin najbardziej wrażliwych na niedobór lub nadmiar cynku (Kabata-Pendias i Pendias 1999). Do pokrycia fizjologicznych potrzeb większości gatunków roślin wystarcza zawartość cynku $15\text{-}30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ suchej masy (Kabata-Pendias i Pendias 1999). Zawartość cynku powyżej $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ s.m. rośliny, dla wielu gatunków jest fitotoksyczne. Toksyczne działanie tego mikroelementu na rośliny zależy zarówno od czynników glebowych jak i od gatunku i fazy rozwoju rośliny. Na glebach lekkich, pia-

szczyłych z małą zawartością substancji organicznej (materia organiczna wiąże dosyć trwale jony cynku), kwaśnych (bez względu na formy cynku jego rozpuszczalność wzrasta proporcjonalnie do spadku pH gleby) fitotoksyczność cynku wzrasta co w znacznej mierze może ograniczyć rozwój roślin zbożowych. Na glebach użytkowanych rolniczo dopuszczalna zawartość cynku wynosi 250-300 mg·kg⁻¹ gleby. Niemniej jednak w literaturze odnotowano, że 300 mg·kg⁻¹ cynku w glebie może być fitotoksyczne dla jęczmienia, a 400 mg·kg⁻¹ dla owsa w fazie kłoszenia (Kabata-Pendias i Pendias 1999). Rośliny pobierają z gleby (roztworu glebowego) czy też pożywki

głównie jony Zn⁺² z form łatwo rozpuszczalnych. Stopień pobierania jednak znacznie się różni w zależności od gatunku, odmiany czy nawet pojedynczej rośliny (Kabata-Pendias i Pendias 1999). Stosowane w doświadczeniu stężenia jonów cynku możemy porównać do zawartości w roztworze glebowym tak więc zarówno stosowana w doświadczeniu łatwo dostępna forma cynku (ZnCl₂) jak i stężenia (200 i 400 mg·dm⁻³) były dla badanych roślin wysoce toksyczne. Obserwowane zmiany przebiegu izoterm adsorpcji, i dalej obliczone na ich podstawie swobodne powierzchnie właściwe, nie wykazały istotnych różnic dla 20 mg·dm⁻³ Zn⁺² w pożywce. Natomiast stężenia cynku 200 i 400 mg·dm⁻³ spowodowały wyraźny wzrost swobodnej powierzchni właściwej (tab. 1).² Nadmierne ilości cynku gromadzą się zazwyczaj w korzeniu i liściach. W korzeniach cynk gromadzi się w zewnętrznych warstwach – w ryzodermie i komórkach kory pierwotnej, przy czym cynk jest obecny głównie w ścianach komórkowych i w wakuoli (Abratowska 2006). Jak wykazały badania



Rys. 1. Izotermy adsorpcji azotu dla korzeni żyta
Fig. 1. Nitrogen adsorption isotherms for rye roots

² t-Test (test Studenta): Dwuśladowy, Typ-2-Wariancje ze śr. próby nie różnią się istotnie między sobą (średnie są jednakowe w ±95% przedziale ufności); +prawda/- fałsz
t-Test (Student -T): Two-tailed, Type-2-Variations for averages of samples do not differ significantly from themselves (averages are the same for ±95% of confidence interval); +truth/-false

S, m ² g ⁻¹	pH7	Zn20	Zn200	Zn400
pH7	+	+	-	-
Zn20	+	+	-	-
Zn200	-	-	+	+
Zn400	-	-	+	+

innych autorów (Baranowska-Morek 2003, Wierzbicka 1995) ściana komórkowa stanowi jedną z mechanicznych i chemicznych barier na drodze wnikania metali ciężkich do symplastu. Immobilizację metali w ścianie komórkowej wykazano w przypadku jonów Cu^{+2} , Zn^{+2} , Pb^{+2} i Al^{+3} . Ściana komórkowa może zatrzymać od 80-95% metalu pobieranego przez komórkę. Głównie grupy karboksylowe komponentów ściany komórkowej, zwłaszcza kwasów pektynowych spełniają rolę czynnika chelatującego metale. Prawdopodobnym jest więc, że jony Zn^{+2} w dużych stężeniach spowodowały ograniczony pobór wapnia, co mogło pośrednio wpłynąć na zmniejszenie cementującej roli pektynianów wapnia (pektyniany wapnia wchodzi w skład blaszki środkowej ściany komórkowej i pełnią rolę łączenia poszczególnych komórek w tkance korzeniowej).

Tabela 1. Swobodna powierzchnia właściwa (S) korzeni żyta (śr. z 3 powtórzeń $\pm 95\%$ ufnością)
Table 1. Free specific surface area (S) of rye roots (av. of 3 replications $\pm 95\%$ confidence)

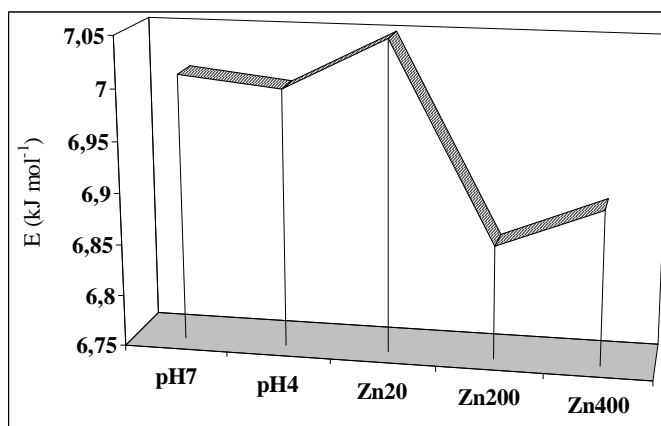
Warianty Variant	S ($\text{m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$) Średnia Average	Ufność – Confidence 95%
pH7*	42,9	$\pm 7,7$
pH4,5*	43,1	$\pm 7,91$
pH4,5+Zn 20 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ *	45,3	$\pm 7,9$
pH4,5+ Zn 200 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$	79,7	$\pm 12,8$
pH4,5+ Zn 400 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$	81,8	$\pm 12,9$

*Pomiędzy danymi (pH = 7, pH = 4,5 i pH = 4,5 + 20 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ cynku) nie uzyskano statystycznie istotnych różnic (t-Student $\pm 95\%$ poziom istotności),

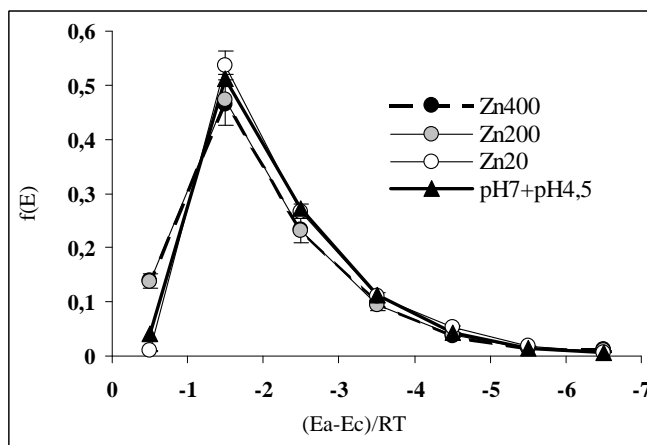
*No statistically significant differences were obtained for pH = 7, pH = 4.5 i pH = 4.5 + Zn 20 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ (Student t-test at $\pm 95\%$ confidence).

Ograniczenie cementującej roli pektynianów blaszki środkowej prowadzi do maceracji tkanki korzeniowej co może być jedną z przyczyn zwiększenia się powierzchni badanych korzeni. Ponadto w obecności czynnika stresowego zmieniają się procesy metaboliczne i enzymatyczne rośliny. W odpowiedzi na obecność toksycznych stężeń metali wydzielane są do apoplastu i na zewnątrz korzeni (niekiedy liści) składniki kompleksujące metale min. peptydy, kwasy organiczne, cukry, aminokwasy i fenole (Taylor 1998, Heumann 2002). W literaturze odnotowano również wzmożoną syntezę kalozy, która była odpowiedzią na toksyczne stężenia jonów Al^{+3} , Co^{+2} , Ni^{+2} , Zn^{+2} . Kaloza (polimer glukozy) jest odkładana na zewnętrznej stronie ściany komórkowej. Wytwarzanie enzymu (beta-1,3-glukan) inhibitującego syntezę kalozy w obecności metali zależy od potencjału elektrycznego, składu i właściwości błony komórkowej oraz od wewnątrzkomórkowego

poziomu wapnia. Zarówno przytoczone tu niektóre zmiany (pod wpływem metali ciężkich) reakcji biochemicznych, enzymatycznych czy też zmiany anatomiczne komórek, tkanek korzenia mogą prowadzić do zmian charakteru chemicznego powierzchni badanych korzeni. Przejawia się to zarówno wzrostem powierzchni właściwej, w przypadku wysokich stężeń jonów cynku w pożywce, jak też nieznacznym spadkiem średniej energii adsorpcji (rys. 2). Rysunek 3 przedstawia funkcję rozkładu energii adsorpcji azotu na korzeniach żyta.



Rys. 2. Średnia energia adsorpcji (E) azotu na korzeniach żyta
 Fig. 2. Average nitrogen adsorption energy (E) for rye roots



Rys. 3. Funkcja rozkładu energii adsorpcji azotu na korzeniach żyta
 Fig. 3. Nitrogen adsorption energy distribution function for rye roots

W badanych korzeniach żyta ozimego odmiany Rostockie nie odnotowano zmian w przebiegu funkcji rozkładu energii adsorpcji pod wpływem niskich stężeń Zn^{+2} w pożywce. Natomiast zaobserwowano nieznaczny spadek wysoko energetycznych centrów adsorpcyjnych (od -5 do $-7 E = (E_a - E_c/RT)$) dla korzeni, których wzrost odbywał się przy stężeniach cynku w pożywce 200 i $400 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ Zn^{+2} . W bardziej wyraźny sposób dla wyższych stężeń cynku spadła ilość frakcji, charakteryzująca średnie energetyczne centra adsorpcyjne (od $-1,5$ do $-5 E = (E_a - E_c/RT)$) oraz wzrosła ilość niskoenergetycznych centrów adsorpcyjnych (od $-0,5$ do $-1,5 E = (E_a - E_c/RT)$). Związane jest to między innymi z blokowaniem przez jony cynku silnie energetycznych grup karboksylowych obecnych w korzeniu lub też, że roślina w warunkach stresu reaguje zwiększoną produkcją związków o charakterze słabo kwaśnym a więc i niskoenergetycznych.

WNIOSKI

1. Powierzchnia właściwa (swobodna) korzeni żyta ozimego odmiany Rostockie nie uległa zmianie pod wpływem jonów wodorowych (pH) i przy $20 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ cynku w pożywce.
2. Przy pH = 4,5 i stężeniach 200 oraz $400 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ Zn^{+2} w pożywce wzrosła powierzchnia właściwa (swobodna) i nieznacznie spadła średnia energia adsorpcji dla korzeni żyta odmiany Rostockie.
3. Funkcja rozkładu energii adsorpcji wskazuje, że w obecności 200 i $400 \text{ mg}\cdot\text{dm}^{-3}$ Zn^{+2} w pożywce, następuje wzrost niskoenergetycznych centrów adsorpcyjnych i nieznaczny spadek wysokoenergetycznych centrów adsorpcyjnych.

PIŚMIENICTWO

- Abratowska A., 2006. *Armeria Maritima* – Gatunek roślin przystosowany do wzrostu na glebach skażonych metalami ciężkimi. *Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych*, T.55, Nr 2-3, 217-227.
- Baranowska-Morek A., 2003. Roślinne mechanizmy tolerancji na toksyczne działanie metali ciężkich. *Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych*, T.52, Nr 2-3, 283-298.
- Józefaciuk G., Szatanik-Kloc A., 2003. Changes in specific area and energy of root surface of cereal plants in Al-solution cultures. *Water vapor adsorption studies. Plant and Soil* 250, 129-140.
- Dechnik I., Stawiński J., 1974. Powierzchnia właściwa w badaniach fizykochemicznych i fizycznych właściwości gleb. *Problemy Agrofizyki*, 6.
- Heumann H.G., 2002. Ultra structural localization of zinc in zinc-tolerant *Armeria maritima* subsp. *hallteri* by autometallography. *J. Plant Physiol.*, 159, 191-203.
- Kabata-Pendias A., Pendias H., 1999. *Biogeochemia pierwiastków śladowych*. PWN, Warszawa.
- Sokołowska Z., Hajnos M., Borówko M., Sokołowski S., 1999. Adsorption of nitrogen on thermally treated Peat soils: The role of energetic and geometric heterogeneity. *Journal of Colloid and Interface Science*, 219, 1-10.
- Szatanik-Kloc A., 2006. Właściwości powierzchniowe korzeni roślin jednoliściennych i dwuliściennych; oznaczane metoda adsorpcji-desorpcji pary wodnej i azotu. *Acta Agrophysica*, Vol. 7(4), 1015-1027.

- Szwejkowska A., 2000. Fizjologia roślin. Wydawnictwo Naukowe UAM, Poznań.
- Taylor G.J., 1998. Exclusion of metals from the symplast a possible mechanism of metal tolerance in higher plants. J. Plant Nutr., 10, 1213-1227.
- Wierzbicka M., 1995. Oddziaływanie metali ciężkich na rośliny. Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych, 44, 639-651.

EFFECT OF pH AND ZINC ON SURFACE AREA
OF RYE (*Secale cereale* L.) ROOTS AS DETERMINED FROM NITROGEN
ADSORPTION-DESORPTION DATA

Alicja Szatanik-Kloc, Grzegorz Bowanko

Institute of Agrophysics, Polish Academy of Sciences, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin
e-mail: akloc@demeter.ipan.lublin.pl

Abstract. Winter rye (*Secale cereale* L.) – variety Rostockie was studied. The plants were grown in nutrient solution at pH = 7 and after reaching shooting stage the pH of the solution was adjusted to pH = 4.5 and various zinc (ZnCl₂) amounts (from 0 to 400 mg Zn kg⁻¹) were added. Nitrogen adsorption-desorption isotherms were measured at 78K using Sorptomatic 1990 made by Fisons. At higher concentrations of Zn⁺² (200 and 400 mg dm⁻³) the root surface area increased and average adsorption energy decreased, as compared with the roots grown without zinc addition 20 mg dm⁻³ Zn⁺² did not induce significant changes in root surface properties.

Keywords: adsorption energy, nitrogen, pH, roots, surface area, zinc